

# Bruselloz Hastalarında Serum Nitrik Oksit ve Malondialdehit Düzeyleri

## SERUM LEVELS OF NITRIC OXIDE AND MALONDIALDEHYDE IN PATIENTS WITH BRUCELLOSIS

Dr. Lütfü SAVAŞ,<sup>a</sup> Dr. Yusuf ÖNLEN,<sup>a</sup> Dr. Nazan SAVAŞ,<sup>b</sup> Dr. Gürbüz POLAT,<sup>c</sup> Dr. Gönül ASLAN<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, <sup>b</sup>Mediko-Sosyal Ünitesi Halk Sağlığı AD, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, HATAY <sup>c</sup>Biyokimya AD, <sup>d</sup>Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, MERSİN

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı bruselloz hastalarında serum nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) düzeylerini saptamak; bulunan NO ile MDA değerlerini, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) gibi laboratuvar testleri ve ateş, terleme, eklem ağrısı gibi klinik bulgularla karşılaştırmaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada 39 brusellozlu hastada tedaviden önce ve kontrol grubu olarak 20 sağlıklı kişide NO ve MDA düzeyleri araştırıldı. NO düzeylerini saptamak için Green yöntemi ile nitrat düzeyleri ölçüldü. MDA düzeylerini saptamak için Yagi metodu kullanıldı.

**Bulgular:** Brusellozlu hastalarda serum NO ve MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). NO ile brusella serum aglütinasyon testi (SAT), AST, ALT, ateş, terleme ve eklem ağrısı arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Buna karşılık NO düzeyleri yüksek olanlarda ESR değerleri yüksekti ( $p < 0.05$ ). Yine MDA ile ESR, ALT, SAT, ateş ve eklem ağrısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken ( $p > 0.05$ ), AST 40 IU/L'nin üzerinde olanlarda MDA değerleri düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Ayrıca terleme öyküsü olanlarda MDA değerleri yüksekti ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** Bu yüksek NO ve MDA değerlerinin klinik olarak anlamlı olup olmadığını göstermek için bu konuda daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Bruselloz, malondialdehit

**Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:478-482**

### Abstract

**Objective:** The aim of this study was to determine serum levels of nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA) in patients with brucellosis and to compare these levels with laboratory tests such as erythrocyte sedimentation rate (ESR), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), brucella serum agglutination test (SAT), as well as clinical findings such as fever, sweating, and arthritic pain for the diagnosis of brucellosis.

**Material and Methods:** In this study, serum NO and MDA levels were determined in 39 patients with brucellosis before treatment, and in 20 healthy individuals as a control group. Nitrate levels were measured by Green's method, and Yagi's method was used to determine MDA levels.

**Results:** Serum NO and MDA levels were significantly raised in patients with brucellosis when compared to those of the control group ( $p < 0.05$ ). There was no relation between serum levels of NO, SAT, AST, ALT, or fever, sweat, and arthritic pain. Contrarily, the ESR was also high in patients with high levels of NO ( $p < 0.05$ ). In addition, there was no relation between MDA and ESR, ALT, SAT, fever, and arthritic pain ( $p > 0.05$ ); however, in patients with AST levels higher than 40 IU/L, levels of MDA were low ( $p < 0.05$ ). Furthermore, MDA levels were high in patients with a history of sweating ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Further studies are needed in order to determine whether high levels of NO and MDA in patients with brucellosis are clinically significant.

**Key Words:** Brucellosis, malondialdehyde

**B**ruselloz, brusella cinsi bakterilerle oluşan; koyun, keçi, sığır gibi hayvanların etleri, idrar gibi vücut çıkartıları, süt ve süt ürünleri, enfekte hayvanların gebelik materyali aracılığı ile

insanlara bulaşabilen; titreme, yüksek ateş, kas ve eklem ağrıları ile seyreden bir zoonozdur.<sup>1</sup> Kronik enfeksiyon oluşturabilmeleri makrofajlar içerisinde öldürme mekanizmasından kaçabilme özelliklerine bağlıdır. Konak savunması intrasellüler bu patojenleri T-1 yardımcı hücreleri, tümör nekroz faktör (TNF), interlökin-1 (İL-1) gibi sitokinler aracılığı ile inaktive edebilmektedir.<sup>2</sup> Son dönemlerde yapılmış olan deneysel ve klinik çalışmalarda nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) serum düzeylerinin bazı bakteriyel enfeksiyonlarda arttığı gösterilmiştir.<sup>3-5</sup>

Geliş Tarihi/Received: 09.12.2004

Kabul Tarihi/Accepted: 26.04.2005

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Yusuf ÖNLEN  
Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD,  
Bağrı Yanık Mah., 31100, Antakya, HATAY  
yonlen@mku.edu.tr

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

NO'nun ilk kez endotelial kaynaklı bir gevşeme faktörü olduğu bildirilmiş, birçok hücre ve dokunun fonksiyonlarını düzenlediği anlaşılmıştır.<sup>6</sup> NO, nitrik oksit sentetaz (NOS) adı verilen bir enzim tarafından sentezlenmektedir. NOS'un endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS), nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere 3 formu tanımlanmıştır. İlk iki formu konstitif olup, kalsiyuma bağımlı olarak endotelial NO'nun üretiminden sorumlu iken, iNOS kalsiyumdan bağımsızdır ve makrofaj kökenli NO'nun sentezinden sorumludur.<sup>4,6-9</sup> Endotelial kökenli NO vasküler hemostazın düzenlenmesinde önemli bir moleküldür.<sup>6,10</sup> Buna karşılık bakteri lipopolisakkaritleri, interferon gamma veya yüksek konsantrasyonlarda lipopolisakkaritlerle uyarılan makrofajların iNOS aracılığı ile sentezlediği NO; bazı virüs, parazit, bakteri ve tümör hücreleri üzerine sitotoksik veya sitostatik bir etkiye sahiptir.<sup>9,11</sup> Oksijen radikalleri poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek çoğu protein ve DNA ile etkileşen birçok ürün oluştururlar. MDA, lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden biri ve aynı zamanda prostaglandin biyosentezinin bir yan ürünüdür. MDA'nın ve diğer oksijen radikallerinin DNA ile birleşerek memeli hücreleri ve bakteriler üzerine mutajenik bir etkiye sahip oldukları bazı çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>12</sup>

Bu çalışmanın amacı bazı mikrobiyal enfeksiyonlarda arttığı bildirilmiş olan NO ve MDA'nın brusellozlu hastalarda düzeylerini saptamak ve bu hastalardaki ateş, terleme, eklem ağrısı, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), serum aglütinasyon testi (SAT) ve yaş ile bir ilişkisinin olup olmadığını saptamaktır.

### Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma 39 brusellozlu hastada ve kontrol grubu olarak sağlıklı 20 kişide yapıldı. SAT düzeyleri 1/160 ve üzerinde pozitif ve klinik olarak bruselloz olduğu düşünülen hastaların tedavilerine başlanmadan önce serum NO ve MDA düzeylerine bakıldı. Bu hastalardan ayrıca hemogram, kan kültürleri, ESR, AST, ALT tetkikleri yapıldı.

Bruselloz tanısı konulan hastalardan tedaviye başlamadan önce, en az 8 saatlik açlık sonrası venöz kan alındı. Alınan kanlar 4000 devir/dk.da 10 dk. süre ile santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Elde edilen serumlar çalışma yapıncaya kadar -70°C'de saklandı. Serum nitrit ve nitrat düzeyleri Green yöntemi temel alınarak çalışıldı.<sup>13</sup> Bu metoda uygun olarak, eşit miktarda serum ve potasyum fosfat tamponu karıştırılarak 4000 rpm de 45 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen ultrafiltrat teste kullanıldı. Analiz için nitratlar kantitatif olarak nitritlere çevrildi. Nitratın nitrite enzimatik indirgenmesi inkübasyon basamağında nitrat redüktaz enzimi varlığında koenzimler nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) flavin adenin dinükleotid (FAD) kullanılarak yapıldı. N-1-(Naftil) etilendiamin dihidroklorür, sülfanilamid ve inkübasyon solüsyonları 1 : 1 : 2 oranlarında karıştırıldı (v/v). Bu karışımlar oda ısısında loş ışıkta 5 dk. inkübe edildi ve spektrofotometrede 540 dalga boyunda okundu. Nitritin saptanmasında standart olarak 1.00 mM sodyum nitrit, nitratın saptanmasında 80 mM potasyum nitrat kullanıldı (Nitric oxide colometric assay, 1-756-281, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). MDA; tiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu ile saptandı. Metodun esası lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan barbitürik asit ile MDA'nın etkileşimi sonucu oluşan pembe renk ölçümüne dayanmaktadır. Renk reaksiyonu için primer olarak 1,1,2,3-tetraetoksi propan kullanıldı. MDA düzeyinin saptanması Yagi ve ark.nın önerdikleri metot ile yapıldı.<sup>14</sup> İstatistiksel analizlerde SPSS 11.5 paket programından yararlanılarak  $\chi^2$ , Mann-Whitney U Testi, Kruskal Wallis ve korelasyon analiz yöntemleri kullanıldı. Korelasyon testi hasta ve kontrol gruplarında yaş ile NO ve yaş ile MDA değerleri arasında yapıldı.

### Bulgular

Bu çalışma Adana Başkent Üniversitesi Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne 2000-2002 tarihleri arasında bruselloz tanısı ile başvuran 39 hastada yapıldı. Çalışmaya dahil edilen 39 hastanın 10'unun SAT'ı 1/160, 16'sının

1/320, 7'sinin 1/640 ve 6'sının 1/1280 bulundu. Tüm hastalardan alınan kan kültürlerinden sadece 4'ünde (%10) brusella bakterileri izole edildi ve hepsi *Brucella melitensis* kökenli idi. Hastaların 26 (%66.7)'sı kadın, 13 (%33.3)'ü erkek; kontrol grubunun 13 (%65)'ü kadın, 7 (%35)'si erkek idi. Hastaların yaş ortalaması  $49.05 \pm 19.94$ , kontrol grubunun ise  $47.50 \pm 16.80$  idi. Hasta ve kontrol grubu yaş ve cinsiyet özellikleri bakımından birbirine benzer bulundu ( $p > 0.05$ ) (Tablo 1). Kontrol grubunda bulunanların hiçbirinin öyküsünde ateş, terleme, eklem ağrısı yoktu. Hastalarda NO ve MDA'nın ortalama değerleri sırası ile  $41.99 \pm 17.57$  ve  $31.34 \pm 19.60$  nmol/mL iken kontrol grubunda NO ve MDA'nın ortalama değerleri sırası ile  $18.27 \pm 3.31$  ve  $2.07 \pm 0.65$  nmol/mL idi. Hastalardaki hem NO'nun ortalama değerleri hem de MDA'nın ortalama değerleri kontrol grubundaki NO ve MDA'nın ortalama değerlerinden anlamlı olarak farklı bulundu (sırasıyla:  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) (Tablo 2). Hem kontrol grubunda, hem de hasta grubunda yaş ile NO ve yaş ile MDA değerleri arasında korelasyon olup olmadığı değerlendirildi. Her iki parametre ile yaş arasında gerek kontrol grubunda, gerekse hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı (Tablo 3). NO ve MDA'nın ateş, terleme, eklem ağrısı, ESR, AST, ALT, SAT arasındaki ilişki Tablo 4'te gösterilmiştir.

### Tartışma

NO ve serbest oksijen radikallerinin bir göstergesi olarak kabul edilen MDA'nın bazı enfeksiyonlarda arttığı bildirilmiştir.<sup>3-5</sup> NO fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda kompleks ve farklı fonksiyonlara sahip bir moleküldür. NO ve süperoksit gibi oksijen radikalleri çeşitli enfeksiyon hastalıklarının patogeneğinde anahtar moleküllerdir. Özellikle iNOS aracılığı ile oluşan NO sentezi çeşitli enfeksiyonlarda artış gösterir. NO'nun antimikrobiyal aktivitesi bakteri, protozoa ve virüsler için gösterilmiştir. iNOS uzun süreli ve bol miktarda NO salınımını sağlamaktadır. Bu da NO'nun süperoksit ile birleşmesinden son derece reaktif azot ara ürünleri olan peroksinitritlerin üretilmesine yol açmaktadır. Peroksinitrit çeşitli moleküllerin güçlü oksidasyonu ve nitrasyon reaksiyonları aracılığı ile oksidatif doku hasarını oluşturur. NO antibakteriyel et-

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımları.

	Bruselloz	Kontrol grubu	p
Yaş (mean $\pm$ SD)	$49.05 \pm 19.94$	$47.50 \pm 16.80$	0.761*
Cins (Erkek/Kadın)	13(33.3)/26(66.7)	7 (35.0)/13 (65.0)	0.898**

\* Mann-Whitney U Testi, \*\*  $\chi^2$ .

**Tablo 2.** Hasta ve kontrol grubunda NO ve MDA ortalama değerleri.

	NO (nmol/mL)	p*	MDA (nmol/mL)	p*
Bruselloz	$41.99 \pm 17.57$	0.000	$31.34 \pm 19.60$	0.000
Kontrol grubu	$18.27 \pm 3.31$		$2.07 \pm 0.65$	

\*Mann-Whitney U Testi "Z" istatistiği.

**Tablo 3.** Yaş ile NO ve MDA değerleri arasında korelasyon.

Yaş	NO	MDA
<b>Brucella (+) Hasta Yaşı</b>		
n	39	39
Korelasyon katsayısı	0.290	0.180
p	0.074 *	0.273*
<b>Kontrol Grubu Yaşı</b>		
n	20	20
Korelasyon katsayısı	0.065	0.370
p	0.786**	0.108**

\* Pearson Korelasyon Analizi,

\*\* Spearman Korelasyon Analizi.

kinliğinin yanı sıra immünopatolojik süreçlerle konağın bağışıklık yanıtını etkileyebilmektedir.<sup>11</sup> Yüksek konsantrasyondaki NO çok çeşitli mikroorganizmaları inhibe edebilir. Ancak aynı zamanda potansiyel olarak konağa zarar verebilir.<sup>8,11</sup>

Nitrat NO'nun stabil bir ürünüdür. Bu noktadan hareketle akut gastroenterit, septik şok, bruselloz gibi bazı enfeksiyonlarda NO'nun bir göstergesi olarak serum veya plazmada nitrat düzeyine bakılmıştır.<sup>3,9</sup> Bizim çalışmamızda da NO'nun bir göstergesi olarak nitrat düzeyine bakılmış ve serum NO düzeyi brusellozlu hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4.** Hasta bulgularına göre NO ve MDA ortalama değerleri.

	Sayı (%)	NO	p	MDA	p
<b>Ateş</b>					
Var	30 (76.9)	29.59 ± 17.07	0.060*	44.35 ± 17.89	0.274*
Yok	9 (23.1)	37.15 ± 26.80		33.98 ± 14.55	
<b>Terleme</b>					
Var	35 (89.7)	43.51 ± 17.54	0.058*	33.28 ± 19.66	<b>0.022*</b>
Yok	4 (10.3)	28.71 ± 12.71		14.30 ± 7.21	
<b>Eklem Ağrısı</b>					
Var	34 (87.2)	41.13 ± 17.92	0.113*	33.28 ± 19.74	0.051*
Yok	5 (12.8)	47.82 ± 15.29		18.14 ± 13.56	
<b>ESR</b>					
0-20	18 (46.2)	36.75 ± 16.89	<b>0.032*</b>	27.59 ± 20.84	0.135*
20 <	21 (53.8)	46.48 ± 17.26		34.55 ± 18.36	
<b>ALT</b>					
0-40	35 (89.7)	41.91 ± 18.41	0.231**	35.54 ± 19.11	0.052**
40 <	4 (10.3)	42.73 ± 8.19		20.83 ± 23.68	
<b>AST</b>					
0-40	34 (87.2)	42.32 ± 18.52	0.337**	33.27 ± 18.89	<b>0.013**</b>
40 <	5 (12.8)	39.74 ± 9.77		18.17 ± 21.35	
<b>SAT</b>					
1/160	10 (25.6)	38.88 ± 11.43	0.199&	38.04 ± 25.89	0.890&
1/320	16 (41.0)	46.92 ± 18.72		28.77 ± 15.37	
1/640	7 (17.9)	31.28 ± 13.25		29.72 ± 14.25	
1/1280	6 (15.4)	46.53 ± 23.83		28.93 ± 25.28	

\* Mann-Whitney U Testi,

\*\* Mann-Whitney U Testi "Z" istatistiği,

&amp; Kruskal Wallis.

Oksijen radikalleri konak savunmasının ve doku hasarının önemli mediyatörleridir. Bu radikaller oksidatif stresle karakterize durumlarda üretilirler ve poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonunu gösterirler. Lipid peroksit ürünleri hem hayvan çalışmalarında hem de hastalardaki çeşitli klinik tablolarda sıklıkla oksijen radikal aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.<sup>15</sup> Çalışmamızda da lipid peroksidasyonunun majör bir ürünü olan MDA düzeyi çalışılmış ve bruselloz hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p< 0.05).<sup>12</sup>

Urrutia ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* enfeksiyonlarında NO düzeylerinin arttığını göstermişlerdir.<sup>4</sup> Ancak yine aynı çalışmada *Escherichia coli* enfeksiyonlarında NO düzeyinin daha fazla arttığını göstermişlerdir. Ahreen ve ark. yaptıkları çalış-

mada akut gastroenteritli, pnömonili ve üriner enfeksiyonlu hastalarda NO düzeyini araştırmış; akut gastroenteritlerde NO düzeyinin arttığını, pnömoni ve üriner enfeksiyonlarda NO düzeyinin normal sınırlarda kaldığını bildirmişlerdir.<sup>9</sup> Bu çalışmaya göre NO düzeyindeki artışın her bölgedeki ve her türdeki enfeksiyondan çok, belli bölgelerdeki ve belli patojenlerle oluşan enfeksiyonlara bağlı olarak arttığı sonucuna varılmıştır. Kandemir ve ark. bruselloz hastalarında NO ve MDA düzeylerini araştırmışlar ve bu çalışmada olduğu gibi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır.<sup>3</sup>

Çalışmamızda ateş, terleme, eklem ağrısı, AST, ALT, SAT değerleri ile NO değerleri arasında bir ilişki saptanmaz iken (p> 0.05), ESR'leri yüksek olan hastalarla NO düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p< 0.05). NO ile ESR

arasındaki bu ilişki her iki parametrenin inflamasyonda artışıyla açıklanabilir. Ateş, eklem ağrısı, ALT, ESR, SAT ile MDA değerleri arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ancak terleme şikayeti olanlarda MDA değerleri terleme olmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Öte yandan AST yüksek olanlarda MDA değerleri normallere göre daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Terleme ile MDA'nın artması ve AST artışı ile MDA'nın azalması konusunda literatür bilgisine rastlanmamıştır. Ayrıca yaş ile NO ve MDA arasında bir korelasyon saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Benzer şekilde Kandemir ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada da NO ve MDA ile hasta yaşları arasında bir korelasyon bulunmamıştır.<sup>3</sup>

Sonuç olarak gerek NO ve MDA değerlerinin bruselloz hastalarında yüksek bulunması, gerekse bazı klinik ve laboratuvar bulgularıyla bu iki parametrenin ilişkisinin anlamlı olup olmadığının değerlendirilebilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

#### KAYNAKLAR

- Sözen TH. Bruselloz. In: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları*. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti; 1996. p.486-91.
- Young EJ. *Brucella species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2000. p.2386-93.
- Kandemir Ö, Eskandari G, Çamdeviren H, Şahin E, Kaya A, Atik U. Plasma malondialdehyde and nitrate levels in patients with brucellosis. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002;4:405-9.
- Lopez-Urrutia L, Alonso A, Nieto ML, Bayon Y, Orduna A, Sanchez Crespo M. Lipopolysaccharides of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* induce nitric oxide synthesis in rat peritoneal macrophages. *Infect Immun* 2000;68:1740-5.
- Doner F, Delibas N, Dogru H, Sari I, Yorgancigil B. Malondialdehyde levels and superoxide dismutase activity in experimental maxillary sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 1999;26:287-91.
- Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1997;4:453-60.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 2002;18:872-9.
- Burgner D, Rockett K, Kwiatkowski D. Nitric oxide and infectious diseases. *Arch Dis Child* 1999;81:185-8.
- Ahren C, Jungersten L, Sandberg T. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in patients with acute infectious diseases. *Scand J Infect Dis* 1999;31:405-7.
- Carr A, Frei B. The role of natural antioxidants in preserving the biological activity of endothelium-derived nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2000;28:1806-14.
- Akaike T, Maeda H. Nitric oxide and virus infection. *Immunology* 2000;101:300-8.
- Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology* 2002;181-2:219-22.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-8.
- Yagi K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol* 1998;108:101-6.
- Fabris C, Pirisi M, Panozzo MP, et al. Intensity of inflammatory damage and serum lipid peroxide concentrations in liver disease. *J Clin Pathol* 1993;46:364-7.